

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2013.00402

饲料中赖氨酸水平对克氏原螯虾生长、体组成与消化酶活性的影响

张微微¹, 徐维娜¹, 王莹^{1,2}, 刘文斌^{1,2}, 鲁康乐¹, 李向飞¹, 杨维维^{1,2}

1. 南京农业大学 动物科技学院 江苏省水产动物营养重点实验室, 江苏 南京 210095;
2. 南京农业大学 渔业学院, 江苏 无锡 214081

摘要: 克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)购自盱眙某龙虾养殖场, 初始体质量为(7.60±0.01) g。以酪蛋白、明胶、小麦面筋粉和晶体氨基酸为蛋白源配制7组蛋白质水平为28.26%、能量为17.15 kJ·g⁻¹的等氮等能半纯和饲料, 各组赖氨酸质量分数分别为0.76%、1.00%、1.22%、1.47%、1.69%、1.89%和2.18%。实验虾分为7组, 每组设4个重复, 每个重复12尾虾, 分别投喂以上7种饲料。养殖实验于室外网箱(规格为60 cm×60 cm×60 cm)中进行, 饲养周期为60 d。结果表明, 随着饲料中赖氨酸水平的升高, 增重率、特定生长率和饲料效率均显著升高($P<0.05$), 分别在赖氨酸水平1.69%、1.69%和1.22%组时, 三者达到最大值; 当赖氨酸水平进一步升高, 三者均呈下降趋势。各组的成活率为89.58%~97.92%, 组间无显著差异($P>0.05$)。全虾水分含量以赖氨酸水平1.22%组最低, 显著低于0.76%组($P<0.05$)。全虾粗蛋白和粗脂肪含量分别以赖氨酸水平1.89%组和1.69%组最高, 均显著高于0.76%组($P<0.05$)。各组之间的全虾灰分含量、肌肉组成、肌肉氨基酸组成和消化酶活性均无显著差异($P>0.05$)。以增重率为评价指标进行一元二次回归分析, 得出克氏原螯虾的适宜赖氨酸需求量为1.66%, 占饲料蛋白的5.87%。本研究旨在通过确定克氏原螯虾对饲料中赖氨酸的适宜需求量, 为其人工配合饲料的研制提供基础数据和理论依据。

关键词: 克氏原螯虾; 赖氨酸需求量; 生长性能; 体组成; 消化酶活性

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2013)02-0402-09

水产动物对蛋白质的营养需求实际上就是对氨基酸的需要。赖氨酸是水产动物必需氨基酸之一, 在体内直接参与蛋白质的合成, 同时还作为肉碱的前体参与长链脂肪酸酰基的 β 氧化^[1]。赖氨酸在植物性蛋白源中含量较低, 且在加工过程中易被破坏, 因此常常被视为第一或第二限制性氨基酸, 对水产动物的生长和饲料利用具有重要影响^[2-3]。目前, 水产动物的适宜赖氨酸需求量已有部分报道, 例如, 凡纳滨对虾(*Penaeus vannamei*)^[4]对赖氨酸的适宜需求量为饲料蛋白的4.67%~5.19%、斑节对虾(*P. monodon*)^[5]为5.2%、草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)^[6]为5.89%、许世平鲷(*Sebastes schlegeli*)^[7]为6.16%、中华绒螯蟹

(*Eriocheir sinensis*)^[8]为6.15%。由以上研究可以发现, 不同水产动物对赖氨酸的适宜需求量存在较大的差异。

克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)是中国已规模化养殖的淡水虾类, 目前的克氏原螯虾养殖大都采用野杂鱼、玉米、小麦等天然饵料或其他虾蟹饲料替代进行饲喂, 由此往往造成营养供给不当, 导致了养殖虾体免疫机能降低、生长速度缓慢、饵料效率低下、环境污染等问题, 因此, 克氏原螯虾专用配合饲料的开发对其集约化养殖具有重要意义。目前, 克氏原螯虾营养学研究主要集中在蛋白质和脂肪需求量^[9-10], 蛋能比^[11-13]等方面, 而对其适宜赖氨酸需求量的研究则未见报

收稿日期: 2012-05-23; 修订日期: 2012-08-01.

基金项目: 江苏省水产三项工程(PJ2010-56); 农业部公益性行业科研专项(201003070).

作者简介: 张微微(1987-), 女, 硕士研究生, 从事水产动物营养与饲料研究. E-mail: zhww1516113@163.com

通信作者: 刘文斌, 教授, 博士生导师. E-mail: wbliu@njau.edu.cn

道。本研究采用剂量-效应法, 探讨饲料中不同赖氨酸水平对克氏原螯虾生长、饲料利用、体组成和消化酶活性的影响, 确定克氏原螯虾对饲料中赖氨酸的适宜需求量, 以期为其人工配合饲料的研制提供基础数据和理论依据。

1 材料与方 法

1.1 实验饲料

以酪蛋白、明胶、小麦面筋粉和晶体氨基酸为蛋白源, 鱼油和大豆油为脂肪源配制蛋白质水平为 28.00%, 脂肪水平为 6.00%, 能量为 16.42 kJ·g⁻¹ 的半纯和饲料(表 1)^[9]。基础饲料中除赖氨酸外的其他氨基酸组成模式与克氏原螯虾肌肉蛋白的氨基酸组成模式一致。分别在基础饲料中添加 0%、0.30%、0.60%、0.90%、1.20%、1.50%和 1.80%的晶体 L-lys·HCl 配制 7 组不同赖氨酸水平的饲料, 相应地减少非必需氨基酸和纤维素的添加量使各组饲料等氮等能。各组饲料的赖氨酸实测值分别为 0.76%、1.00%、1.22%、1.47%、1.69%、1.89%和 2.18%(表 2), 对应占饲料蛋白质的 2.71%、3.54%、4.33%、5.20%、5.99%、6.69%和 7.72%。饲料中添加的晶体氨基酸均经过预混, 并用羧甲基纤维素包被^[14]。饲料原料经粉碎过 60 目筛, 按小量到大量的顺序, 逐步混合均匀后加水搅拌。通过绞肉机加工后剪段, 制成直径 2~3 mm, 长度 3~4 mm 的柱状颗粒, 常温干燥后, 于 -20℃冰箱中保存。

1.2 实验虾及饲养管理

实验用克氏原螯虾购自盱眙某龙虾养殖场, 初始体质量为(7.60±0.01) g。投喂商品料驯化 1 周后, 挑选大小均一、体格健壮的克氏原螯虾幼虾分为 7 组, 每组设 4 个重复(网箱), 每个重复 12 尾虾, 雌雄比为 1:1。每天于 8:00、16:00 和 22:00 定量投喂 3 次, 各占每日投喂量的 30%、30%和 40%。日投喂量为虾体质量的 5%~7%, 每次投喂前, 去除网箱中残饵和粪便。实验周期为 60 d。

养殖实验于江苏省淡水水产研究所禄口养殖基地进行。将实验用网箱(规格为 60 cm×60 cm×60

cm, 长×宽×高)置于室外水泥池中, 水深 40 cm, 保持水泥池微流水和不断充气, 实验用水为过滤室外池塘水。养殖期间水温 24~28℃, pH 7.0~7.5, 水中溶氧 4.0 mg/L 以上, 氨氮低于 5 mg/L。

表 1 基础饲料配方及化学组成

Tab.1 Formulation and chemical composition of the basal diet

成分 ingredient	含量 content
酪蛋白 casein	5.77
明胶 gelatin	1.44
小麦面筋粉 wheat gluten	21.34
必需氨基酸混合物 essential amino acid mixture ¹⁾	3.25
非必需氨基酸混合物 non-essential amino acid mixture ²⁾	3.16
玉米淀粉 corn starch	46.26
鱼油 fish oil	2.79
豆油 soybean oil	2.79
纤维素 cellulose	9.00
添加剂预混料 additive premixture ³⁾	1.00
磷酸二氢钙 calcium biphosphate	2.00
氯化胆碱 choline chloride	0.20
羧甲基纤维素 carboxymethyl cellulose	1.00
化学组成 chemical composition	
粗蛋白 crude protein	28.26
粗脂肪 crude lipid	6.12
能值/(kJ·g ⁻¹) energy	17.15

注: 1) 必需氨基酸混合物 (g/kg 饲料): 苏氨酸 2.5, 缬氨酸 1.7, 蛋氨酸 2.2, 亮氨酸 3.3, 苯丙氨酸 2.9, 组氨酸 2.6, 精氨酸 17.3。

2) 非必需氨基酸混合物 (g/kg 饲料): 天冬氨酸 18.3, 甘氨酸 3.5, 丙氨酸 9.6, 酪氨酸 0.1。3) 添加剂预混料 (每 kg 饲料): 维生素 E 150 mg, 维生素 K 50 mg, 维生素 B₁ 80 mg, 维生素 B₂ 50 mg,

烟酸 150 mg, 泛酸 150 mg, 维生素 B₆ 50 mg, 生物素 1 mg, 维生素 B₁₂ 0.02 mg, 叶酸 10 mg, 维生素 C 300 IU, 维生素 A 10 000 IU, 维生素 D 2 000 IU。硫酸铜 2.0 g, 硫酸铁 25 g, 硫酸锌 22 g, 硫酸锰 7 g, 亚硒酸钠 0.04 g, 碘化钾 0.026 g, 氯化钴 0.1 g。

Note: 1) Essential amino acid mixture (g/kg diet): threonine 2.5, valine 1.7, methionine 2.2, leucine 3.3, phenylalanine 2.9, histidine 2.6, arginine 17.3. 2) Non-essential amino acid mixture (g/kg diet): aspartic acid 18.3, glycine 3.5, alanine 9.6, tyrosine 0.1. 3) Additive premixture (per kg diet): VE 150 mg, VK 50 mg, thiamine 80 mg, riboflavin 50 mg, Niacin 150 mg, pantothenic acid 150 mg, pyridoxine 50 mg, biotin 1 mg, cyanocobalamin, 0.02 mg, folic acid 10 mg, VC 300 IU, VA 10 000 IU, VD 2 000 IU, copper sulphate 2.0 g, iron sulphate 25 g, zinc sulphate 22 g, manganese sulphate 7 g, sodium selenite 0.04 g, potassium iodide 0.026 g, cobalt chloride 0.1 g。

表 2 实验饲料的氨基酸组成
Tab.2 Amino acid composition of the experimental diets

氨基酸 amino acid	饲料 1 Diet1	饲料 2 Diet2	饲料 3 Diet3	饲料 4 Diet4	饲料 5 Diet5	饲料 6 Diet6	饲料 7 Diet7	%; 干重 dry matter 28%肌肉蛋白 28% muscle protein
必需氨基酸 essential amino acid								
精氨酸 arginine	2.48	2.55	2.54	2.50	2.55	2.51	2.43	2.58
组氨酸 histidine	0.73	0.74	0.75	0.73	0.75	0.76	0.72	0.74
异亮氨酸 isoleucine	1.09	1.11	1.07	1.05	1.11	1.10	1.04	1.15
亮氨酸 leucine	2.02	2.07	2.02	1.99	2.08	2.04	1.95	2.02
赖氨酸 lysine	0.76	1.00	1.22	1.47	1.69	1.89	2.18	2.46
蛋氨酸 methionine	0.61	0.61	0.59	0.57	0.61	0.58	0.58	0.61
苯丙氨酸 phenylalanine	1.36	1.37	1.37	1.34	1.37	1.36	1.30	1.12
苏氨酸 threonine	0.99	1.00	0.99	0.98	1.01	1.00	0.96	1.01
缬氨酸 valine	1.09	1.13	1.09	1.11	1.12	1.09	1.05	1.15
非必需氨基酸 non-essential amino acid								
丙氨酸 alanine	1.68	1.64	1.53	1.41	1.37	1.26	1.13	1.71
天冬氨酸 aspartic acid	2.60	2.54	2.43	2.33	2.32	2.19	2.06	2.84
胱氨酸 cystine	0.07	0.06	0.07	0.07	0.08	0.08	0.06	0.09
谷氨酸 glutamic acid	4.94	5.13	4.99	4.90	5.10	4.99	4.75	4.97
甘氨酸 glycine	1.17	1.14	1.02	0.90	0.87	0.76	0.65	1.25
丝氨酸 serine	1.05	1.06	1.04	1.03	1.07	1.06	1.01	1.05
酪氨酸 tyrosine	0.95	0.88	0.93	0.93	0.93	0.92	0.87	0.92
脯氨酸 proline	1.61	1.69	1.66	1.70	1.79	1.67	1.58	0.94

注: 本研究中色氨酸未检测。

Note: Tryptophane was not determined in this study.

1.3 样品采集

养殖实验结束后, 禁食 24 h, 按网箱称取虾的终末体重, 并统计成活率。每网箱随机选取 4 尾虾于 -20°C 冰箱中保存, 用于全虾体组成分析。每网箱另取 4 尾虾进行冰浴解剖, 取肠道置于液氮中保存, 用于相关酶活性的测定, 取去壳肌肉于 -20°C 冰箱中保存, 用于肌肉常规组成和氨基酸分析。

1.4 样品分析

1.4.1 生长指标计算

成活率(SR, %)= (实验结束时虾尾数/实验开始时虾尾数) $\times 100\%$

增重率(WGR, %)= [(终末体质量-初始体质量)/初始体质量] $\times 100\%$

特定生长率(SGR, $\% \cdot \text{d}^{-1}$)= (ln 终末体质量-ln 初始体质量)/饲养天数 $\times 100\%$

饲料效率(FER, %)= (终末体质量-初始体质量)

量)/摄食量 $\times 100\%$

1.4.2 营养成分分析 饲料、全虾和肌肉的营养成分分析采用 AOAC^[15]的方法: 将样品称重后置于培养皿中, 在 $(105 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ 的烘箱中烘至恒重得到水分含量; 粗蛋白(N $\times 6.25$)含量采用全自动凯氏定氮仪(FOSS KT260, 瑞士)测定; 粗脂肪含量采用索氏抽提仪测定; 粗灰分采用高温灼烧法测定; 总能采用氧弹测热仪(Parr 1281, 美国)测定; 饲料和肌肉氨基酸分析采用盐酸水解法通过氨基酸分析仪(日立 L-8900, 日本)测定。

1.4.3 消化酶活性测定 准确称取肠道样品, 按质量体积比 1 : 9 的比例加入 4 $^{\circ}\text{C}$ 去离子水后制成组织匀浆, 以 4 000 r/min 转速离心 10 min, 取上清液于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存用于组织消化酶活性和蛋白浓度测定。蛋白酶活性测定参照徐维娜等^[9]方法, 以 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下, 每分钟水解干酪素生成 1 μg 酪氨酸作为 1 个活性单位。脂肪酶、淀粉酶活性和组织

蛋白浓度均采用购自南京建成生物工程研究的试剂盒测定。脂肪酶以 37℃ 条件下, 每毫克组织蛋白在反应体系中与底物反应 1 min 消耗 1 μmol 底物为 1 个活性单位。淀粉酶以 37℃ 条件下, 每毫克组织蛋白与底物作用 30 min, 水解 10 mg 淀粉为 1 个活性单位。组织蛋白浓度采用考马斯亮兰法测定。

1.5 统计分析

实验数据以平均值±标准误($\bar{x} \pm SE$)表示。采用 SPSS 16.0 软件对数据进行单因素方差分析(One-way ANOVA)后, 使用 Duncan's 进行多重比较, 显著性水平为 $P < 0.05$ 。并对饲料赖氨酸水平与克氏原螯虾的增重率进行回归分析。

2 结果与分析

2.1 饲料中不同赖氨酸水平对克氏原螯虾生长和饲料利用的影响

不同赖氨酸水平对克氏原螯虾生长性能的影响如表 3 所示。随着饲料中赖氨酸水平的升高, 增重率、特定生长率和饲料效率显著升高($P < 0.05$), 并且分别在 1.69%、1.69%和 1.22%组时达到最大值, 当赖氨酸水平进一步升高, 上述各项指标均呈下降趋势。虾的成活率为 89.58%~97.92%, 随饲料赖氨酸水平的升高也呈先升高后降低的趋势, 但各组之间无显著差异($P > 0.05$)。

对饲料赖氨酸水平与克氏原螯虾的增重率进行二次回归分析, 结果如图 1 所示。得到饲料赖氨酸水平与增重率的二次多项式回归方程: $y = -39.20x^2 + 130.55x - 5.06$, 经计算得出克氏原螯虾对饲料中赖氨酸的适宜需求量为 1.66%, 占饲料蛋白的 5.87%。

2.2 饲料中不同赖氨酸水平对克氏原螯虾体组成的影响

由表 4 可知, 全虾的水分含量以赖氨酸水平 1.22%组最低, 显著低于 0.76%组($P < 0.05$), 但和其他组之间差异不显著。全虾的粗蛋白含量随着饲料赖氨酸水平的升高而逐渐升高, 以 1.89%组最高, 显著高于 0.76%和 1.00%组($P < 0.05$)。全虾的粗脂肪含量以 1.69%组最高, 显著高于 0.76%和 1.89%组($P < 0.05$)。各组之间的全虾灰分含量和肌肉组成均无显著差异 ($P > 0.05$)。

2.3 饲料中不同赖氨酸水平对克氏原螯虾肌肉氨基酸组成的影响

克氏原螯虾肌肉中共测出 17 种氨基酸, 包括 9 种必需氨基酸和 8 种非必需氨基酸, 色氨酸因在水解过程中被破坏, 未被测出。由表 5 可知, 饲料中赖氨酸水平对肌肉中的必需氨基酸含量、氨基酸总量及单个氨基酸含量均无显著影响($P > 0.05$)。克氏原螯虾肌肉中的赖氨酸含量以 1.47%组最高, 2.18%组最低。肌肉中的必需氨基酸含量

表 3 饲料赖氨酸水平对克氏原螯虾生长和饲料利用的影响
Tab. 3 Effect of dietary lysine levels on growth and feed utilization of *Procambarus clarkii*

$n=4$; $\bar{x} \pm SE$

参数 index	饲料赖氨酸水平/% lysine level in diets						
	0.76	1.00	1.22	1.47	1.69	1.89	2.18
初始体质量/g initial body weight	7.61±0.04	7.64±0.03	7.62±0.05	7.59±0.01	7.56±0.03	7.59±0.02	7.56±0.02
终末体质量/g final body weight	12.94±0.53 ^a	14.63±0.22 ^{ab}	14.90±0.60 ^b	15.01±0.58 ^b	15.49±0.38 ^b	15.38±0.71 ^b	14.58±0.58 ^{ab}
成活率/% survival rate	89.58±3.99	93.75±3.99	97.92±2.08	95.84±4.16	95.84±2.40	91.67±0.00	91.66±4.81
增重率/% weight gain rate	69.66±8.24 ^a	91.05±3.55 ^{ab}	95.62±8.10 ^b	98.12±7.37 ^b	104.84±4.18 ^b	102.64±9.31 ^b	92.95±7.70 ^{ab}
特定生长率/(%·d ⁻¹) specific growth rate	0.88±0.08 ^a	1.08±0.03 ^b	1.11±0.07 ^b	1.14±0.06 ^b	1.19±0.01 ^b	1.17±0.08 ^b	1.09±0.06 ^b
饲料效率/% feed efficiency ratio	26.49±3.77 ^a	35.00±1.39 ^b	37.92±2.92 ^b	37.19±2.11 ^b	37.04±1.71 ^b	32.88±0.75 ^{ab}	30.80±2.57 ^{ab}

注: 同行上标不同字母表示差异显著($P < 0.05$), 同行未标注字母表示无显著差异($P > 0.05$)。

Note: Values with different superscripts in the same row are significantly different ($P < 0.05$). Values without superscript in the same row are not significantly different ($P > 0.05$).

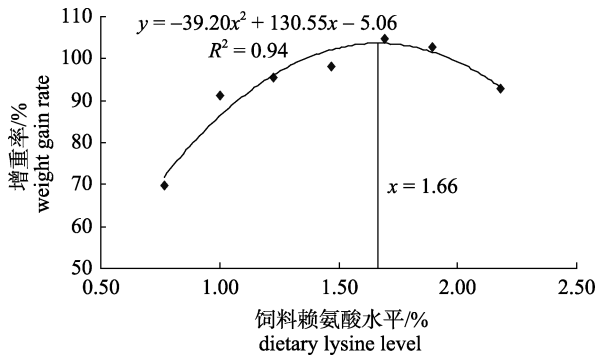


图 1 饲料赖氨酸水平与克氏原螯虾增重率的回归分析
Fig. 1 Regression analysis between dietary lysine levels and weight gain rate of *Procambarus clarkii*

随饲料赖氨酸水平的升高而呈先升高后降低的趋势，以 1.22% 组最高。

2.4 饲料中不同赖氨酸水平对克氏原螯虾肠道消化酶活性的影响

由表 6 可知，饲料中赖氨酸水平对克氏原螯虾的肠道蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶活性均无显著影响 ($P>0.05$)。肠道蛋白酶活性为 60.09~65.62 $U \cdot \mu g^{-1}$ ，在赖氨酸水平 1.22% 组最高，达到 65.62 $U \cdot \mu g^{-1}$ 。肠道脂肪酶活性为 6.19~10.54 $U \cdot mg^{-1}$ ，肠道淀粉酶活性为 1.00~2.35 $U \cdot mg^{-1}$ ，分别以赖氨酸水平 1.69% 和 1.47% 组最高。3 种消化酶的活性均在赖氨酸水平为 1.69%~2.18% 时呈下降趋势，并在 2.18% 组时达到各实验组最低值。

3 讨论

3.1 饲料中不同赖氨酸水平对克氏原螯虾生长和饲料利用的影响

本实验中，赖氨酸缺乏组的克氏原螯虾表现出了较低的存活率和生长速度，随着饲料中赖氨酸水平的升高，其生长速度和饲料效率均得到了显著的提高。由此证明，赖氨酸是克氏原螯虾的必需氨基酸之一，经过羧甲基纤维素包被处理后的晶体氨基酸能够被克氏原螯虾有效利用。

相关研究表明，随着饲料中赖氨酸水平的增加，鱼虾类的生长速度加快，当饲料赖氨酸水平超过适宜需求量之后，鱼虾类的生长速度呈现两种不同的变化^[7]。例如，当饲料赖氨酸水平过高时，印度鲤 (*Cirrhinus mrigala*)^[16]、斯塔野鲮 (*Labeo rohita*)^[17] 和中华绒螯蟹^[8] 的生长速度显著降低；而斜带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*)^[18]、花鲈 (*Lateolabrax japonicus*)^[19] 和赤鲷 (*Pagrus major*)^[20] 的生长则相对稳定。本实验结果表明，当饲料中赖氨酸的水平为 1.69%~2.18% 时，克氏原螯虾的生长速度呈现降低的趋势。推测原因，可能是因为过量的赖氨酸会导致饲料的氨基酸比例失衡，阻碍了克氏原螯虾对其他氨基酸的吸收利用，从而抑制了生长和饲料利用。此外，采食量的降低也是一个不容忽视的因素，因为氨基酸的缺乏或过

表 4 饲料赖氨酸水平对克氏原螯虾全虾和肌肉营养成分的影响

Tab.4 Effect of dietary lysine levels on nutritional composition of whole body and muscle of *Procambarus clarkii*

$n=4$; $\bar{x} \pm SE$; %

参数 index	饲料赖氨酸水平/% lysine level in diets						
	0.76	1.00	1.22	1.47	1.69	1.89	2.18
全虾 whole body							
水分 moisture	72.49±1.77 ^b	72.23±1.50 ^{ab}	68.57±0.46 ^a	70.00±1.41 ^{ab}	70.63±0.98 ^{ab}	70.44±0.49 ^{ab}	70.47±0.03 ^{ab}
粗蛋白 crude protein	10.78±0.35 ^a	10.98±0.25 ^a	11.09±0.26 ^{ab}	11.54±0.34 ^{ab}	11.56±0.27 ^{ab}	11.93±0.29 ^b	11.53±0.18 ^{ab}
粗脂肪 crude lipid	3.30±0.14 ^a	3.53±0.26 ^{ab}	3.78±0.21 ^{ab}	3.74±0.31 ^{ab}	4.12±0.16 ^b	3.16±0.26 ^a	3.82±0.32 ^{ab}
灰分 ash	10.28±0.55	10.91±0.17	11.34±0.45	10.20±0.75	9.60±0.45	10.58±0.31	10.33±0.56
肌肉 muscle							
水分 moisture	78.59±0.40	78.22±0.28	78.15±0.17	78.55±0.30	78.46±0.37	77.92±0.35	77.82±0.44
粗蛋白 crude protein	17.37±0.62	17.72±0.71	18.11±0.33	18.16±0.93	18.37±0.62	18.02±0.38	18.00±0.30
粗脂肪 crude lipid	0.63±0.07	0.67±0.47	0.80±0.24	0.83±0.29	0.81±0.14	0.76±0.20	0.64±0.24

注：同行上标不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)，同行未标注字母表示无显著差异 ($P>0.05$)。

Note: Values with different superscripts in the same row are significantly different ($P<0.05$). Values without superscript in the same row are not significantly different ($P>0.05$).

表 5 饲料赖氨酸水平对克氏原螯虾肌肉氨基酸组成的影响

Tab.5 Effect of dietary lysine levels on amino acid composition in muscle of *Procambarus clarkii*n=4; $\bar{x} \pm SE$; %

氨基酸 amino acid	饲料赖氨酸水平/% lysine level in diets						
	0.76	1.00	1.22	1.47	1.69	1.89	2.18
天冬氨酸 aspartic acid	1.69±0.01	1.70±0.04	1.72±0.02	1.65±0.01	1.68±0.09	1.68±0.01	1.71±0.04
苏氨酸 threonine	0.69±0.01	0.69±0.02	0.69±0.00	0.68±0.00	0.67±0.05	0.68±0.02	0.68±0.03
丝氨酸 serine	0.72±0.01	0.72±0.02	0.74±0.01	0.72±0.02	0.73±0.04	0.72±0.02	0.72±0.01
谷氨酸 glutamic acid	3.10±0.07	3.19±0.05	3.21±0.11	3.25±0.09	3.26±0.11	3.19±0.17	3.26±0.05
甘氨酸 glycine	0.76±0.02	0.78±0.03	0.78±0.09	0.73±0.02	0.81±0.06	0.81±0.06	0.76±0.03
丙氨酸 alanine	0.99±0.03	0.97±0.02	1.03±0.07	0.95±0.03	1.01±0.07	0.94±0.01	0.94±0.03
胱氨酸 cystine	0.04±0.02	0.03±0.01	0.03±0.03	0.02±0.02	0.03±0.02	0.03±0.01	0.04±0.00
缬氨酸 valine	0.74±0.01	0.74±0.03	0.75±0.02	0.75±0.04	0.77±0.03	0.72±0.02	0.72±0.03
蛋氨酸 methionine	0.31±0.01	0.32±0.02	0.31±0.02	0.33±0.00	0.32±0.02	0.31±0.02	0.32±0.02
异亮氨酸 isoleucine	0.74±0.01	0.74±0.02	0.74±0.00	0.74±0.01	0.76±0.03	0.75±0.01	0.74±0.03
亮氨酸 leucine	1.36±0.01	1.37±0.04	1.37±0.00	1.37±0.03	1.40±0.05	1.37±0.02	1.37±0.03
酪氨酸 tyrosine	0.70±0.02	0.69±0.02	0.71±0.02	0.71±0.04	0.71±0.03	0.70±0.02	0.69±0.03
苯丙氨酸 phenylalanine	0.84±0.03	0.83±0.03	0.86±0.03	0.87±0.05	0.86±0.03	0.84±0.03	0.82±0.03
赖氨酸 lysine	1.43±0.05	1.43±0.05	1.47±0.05	1.49±0.09	1.48±0.06	1.45±0.06	1.42±0.05
组氨酸 histidine	0.53±0.04	0.55±0.03	0.55±0.06	0.59±0.09	0.55±0.02	0.54±0.05	0.55±0.02
精氨酸 arginine	1.70±0.05	1.77±0.07	1.75±0.03	1.76±0.01	1.70±0.15	1.74±0.01	1.67±0.10
脯氨酸 proline	0.47±0.06	0.47±0.08	0.41±0.03	0.47±0.07	0.55±0.06	0.49±0.06	0.57±0.02
必需氨基酸 TEAA	8.34±0.17	8.45±0.24	8.88±0.40	8.57±0.31	8.30±0.36	8.24±0.20	8.29±0.33
氨基酸总量 TAA	16.81±0.21	17.00±0.40	17.12±0.22	17.06±0.45	17.30±0.76	16.74±0.34	16.98±0.48

表 6 饲料赖氨酸水平对克氏原螯虾肠道消化酶活性的影响

Tab.6 Effect of dietary lysine levels on digestive enzymes activities in intestine of *Procambarus clarkii*n=4; $\bar{x} \pm SE$

消化酶 enzyme	饲料赖氨酸水平/% lysine level in diets						
	0.76	1.00	1.22	1.47	1.69	1.89	2.18
蛋白酶/(U·μg ⁻¹) protease	61.36±3.19	62.43±2.91	65.62±3.25	64.96±5.74	65.18±5.35	61.20±3.87	60.09±4.93
脂肪酶/(U·mg ⁻¹) lipase	7.61±0.68	7.71±2.26	8.96±1.45	8.28±2.19	10.54±4.90	8.66±2.90	6.19±0.99
淀粉酶/(U·mg ⁻¹) amylase	1.05±0.15	1.53±0.18	2.00±0.92	2.35±1.65	2.10±1.12	1.79±1.08	1.00±0.27

量会导致饲料适口性的降低,降低动物的采食量,进而导致其生长速度和饲料利用效率的降低^[21]。本实验中,赖氨酸缺乏组和过量组的采食量相比与其他组均较低,其生长速度和饲料利用效率也较低,与上述推测相符合。另外,有研究表明,饲料中赖氨酸与精氨酸之间是否存在拮抗作用因鱼种类的不同而异^[22-23],本实验中饲料赖氨酸的过量对克氏原螯虾生长和饲料利用的抑制作用也可能与赖氨酸和精氨酸的拮抗有关。

大量研究表明,饲料中赖氨酸水平对水产动物成活率的影响与实验动物种类、实验条件、饲料组成,基础饲料中赖氨酸含量及饲养管理等诸多因素有关。例如,对大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)^[24]

的研究表明,赖氨酸缺乏组并未表现出明显的病理性缺乏症,但却显著降低了其成活率。而对中华绒螯蟹^[8]的研究则表明,日粮赖氨酸水平对其成活率无显著影响。本实验结果与中华绒螯蟹的研究结果相似,推测原因可能是因为实验动物对赖氨酸的缺乏和过量具有较高的耐受力,也可能是因为基础饲料的赖氨酸含量基本满足了实验动物的机体代谢需求。

3.2 饲料中不同赖氨酸水平对克氏原螯虾营养成分的影响

本实验中,赖氨酸缺乏组的克氏原螯虾全虾粗蛋白和肌肉粗蛋白含量较低,随着饲料赖氨酸水平的升高,全体粗蛋白和粗脂肪含量也显著提

高。可能是因为在饲料中赖氨酸不足的情况下,饲料的氨基酸模式的失衡,限制了其他氨基酸的利用,加重了多余氨基酸的脱氨基作用,最终导致了体蛋白合成受限^[25]。

3.3 饲料中不同赖氨酸水平对克氏原螯虾消化酶活性的影响

饲料营养质量是影响甲壳动物消化酶活性变化的关键因素,消化酶活性在一定程度上反映出机体对饲料养分的消化利用程度。当摄食不同营养成分的饲料,甲壳动物会出现消化酶分泌量的差异,以更好地消化、吸收和利用饲料中的营养物质,表现为对饲料组成的明显适应性^[26-27]。本实验中,随着饲料赖氨酸水平的升高,克氏原螯虾肠道消化酶活性与饲料效率呈相同的升高趋势,其中肠道蛋白酶与饲料效率均以 1.22%组最高,表明饲料赖氨酸的适宜水平可以提高肠道蛋白酶活性,促进虾体对饲料养分的利用。而当饲料赖氨酸水平为 1.69%~2.18%时,克氏原螯虾肠道消化酶活性逐渐降低,推测在赖氨酸过量的情况下,克氏原螯虾对饲料的氨基酸不平衡表现出适应性,即过量的赖氨酸水平抑制了肠道消化酶的活性,这也可能是虾的生长速度和饲料效率降低的原因之一。

3.4 克氏原螯虾的赖氨酸需求量及与其他水产类动物的比较

本实验以增重率为指标,经二次回归分析得出克氏原螯虾的适宜赖氨酸需求量为 1.66%,占饲料蛋白质的 5.87%,结果高于凡纳滨对虾^[4]的 4.67%~5.19%和斑节对虾^[5]的 5.2%,低于中华绒螯蟹^[8]的 6.15%。高于大黄鱼^[28]的 5.65%~5.77%、斜带石斑鱼^[18]的 5.56%,低于黑鲷(*S. macrocephalus*)^[29]的 8.64%、异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)^[30]的 8.52%和黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)^[31]的 8.32%,与建鲤(*Cyprinus carpio* var. Jian)^[32]的 5.9%、草鱼^[6]的 5.89%、银鲈(*Bidyanus bidyanus*)^[33]的 5.96%及花鲈^[19]的 5.80%~6.07%的结果相近。由此可见,水产动物对赖氨酸需求量存在较大差异。除了与实验动物种属间的差异有关外,动物的规格,饲料配方,饲料蛋白源,饲养

条件和管理方法等因素均会对实验结果造成影响。本实验所添加的晶体氨基酸在加工中进行了羧甲基纤维素包被处理,减少了晶体氨基酸在水体中的溶失,并在一定程度上缓解了晶体游离氨基酸与蛋白结合类的氨基酸在消化道内吸收不同步的问题。但相比鱼类,甲壳类水产动物的采食速度较慢,由此会造成饲料营养尤其是游离氨基酸的损失,所以本实验所得的克氏原螯虾的赖氨酸需求量可能会高于绝对的营养需求。

此外,采用剂量-效应法评定饲料中赖氨酸等营养物的需求量时,评定方法不同也会导致得出需求量的差异。一般认为,折线模型方法更容易低估营养物质的需求量;而采用蛋白沉积和氮保留率等作为评定指标,得到的需求量会高于由增重指标回归所得的结果^[33]。本实验以代表生长性能的增重率为评定指标,采用了更精确、合理的曲线回归方法得出了克氏原螯虾的适宜赖氨酸需要量。

4 结论

饲料赖氨酸水平对克氏原螯虾的生长和饲料利用率具有显著影响;适宜的赖氨酸水平能够显著降低虾体水分含量,提高虾体的粗蛋白和粗脂肪含量;饲料中过量赖氨酸对克氏原螯虾的消化酶活性有一定的抑制作用。以增重率为评定指标,经二次回归分析得出:克氏原螯虾的适宜赖氨酸需求量为 1.66%,占饲料蛋白的 5.87%。

参考文献:

- [1] Walton M J, Cowey C B, Adron J W. The effect of dietary lysine levels on growth and metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. Brit J Nutr, 1984, 52: 115-122.
- [2] Gatlin D M III, Barrows F T, Brown P, et al. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review [J]. Aqu Res, 2007, 38: 551-579.
- [3] Helena P, Aires O T. Effect of the dietary essential to non-essential amino acid ratio on growth, feed utilization and nitrogen metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. Aquaculture, 2006, 256: 395-402.
- [4] Fox J M, Lawrence A L, Li-Chan E. Dietary requirement for

- lysine by juvenile *Penaeus vannamei* using intact and free amino acid sources [J]. *Aquaculture*, 1995, 131: 279–290.
- [5] Millamena O M, Bautista-Teruel M N, Reyes O S, et al. Requirements of juvenile marine shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius) for lysine and arginine [J]. *Aquaculture*, 1998, 164: 95–104.
- [6] Wang S, Liu Y J, Tian L X, et al. Quantitative dietary lysine requirement of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella* [J]. *Aquaculture* 2005, 249: 419–429.
- [7] 严全根, 解绶启, 雷武, 等. 许氏平鲉幼鱼的赖氨酸需求量[J]. *水生生物学报*, 2006, 30(4): 459–465.
- [8] 叶金云, 王友慧, 郭建林, 等. 中华绒螯蟹对赖氨酸、蛋氨酸和精氨酸的需要量[J]. *水产学报*, 2010, 34(10): 1541–1548.
- [9] 徐维娜, 刘文斌, 沈美芳, 等. 饲料中不同蛋白质和脂肪水平对克氏螯虾(*Procambarus clarkii*)生长性能、体组成和消化酶活性的影响[J]. *海洋与湖沼*, 2011, 42(4): 521–529.
- [10] Jover M, Fernández-Carmona J, Del Río M C, et al. Effect of feeding cooked-extruded diets, containing different levels of protein, lipid and carbohydrate on growth of red swamp crayfish(*Procambarus clarkii*) [J]. *Aquaculture*, 1999, 178: 127–137.
- [11] 王桂芹, 赵朝阳, 周鑫, 等. 饲料蛋白和能量水平对克氏原螯虾生长和蛋白质代谢的影响[J]. *华南农业大学学报*, 2011, 32(2): 109–112.
- [12] 何吉祥, 王志耕, 梅林, 等. 克氏螯虾饲料中适宜的蛋白质含量和能量蛋白比研究[J]. *水生生态学杂志*, 2009, 2(3): 78–86.
- [13] 吴东, 夏伦志, 侯冠军, 等. 3 种蛋白水平饲料对克氏螯虾生长和虾肉品质的影响[J]. *淡水渔业*, 2007, 37(5): 36–40.
- [14] Alam M S, Teshima S, Koshio S, et al. Effects of supplementation of coated crystalline amino acids on growth performance and body composition of juvenile kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* [J]. *Aqu Nutr*, 2004, 10: 309–316.
- [15] AOAC. Official Methods of Analysis [M]. 15th ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists, 2001: 98, 450, 606, 589.
- [16] Ahmed I, Khan M A. Dietary lysine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) [J]. *Aquaculture*, 2004, 235: 499–511.
- [17] Abidi S F, Khan M A. Growth, Protein Retention, and Body Composition of Fingerling Indian Major Carp, Rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), Fed Diets with Various Levels of Lysine [J]. *J World Aqu Soc*, 2010, 41: 791–799.
- [18] Luo Z, Liu Y J, Mai K S, et al. Quantitative L-lysine requirement of juvenile grouper *Epinephelus coioides* [J]. *Aqu Nutr*, 2006, 12(3): 165–172.
- [19] Mai K, Zhang L, Ai Q H, et al. Dietary lysine requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* [J]. *Aquaculture*, 2006, 258: 535–542.
- [20] Forster I, Ogata H.Y. Lysine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and juvenile red sea bream *Pagrus major* [J]. *Aquaculture*, 1998, 161: 131–142.
- [21] Farhat, Khan M A. Dietary L-lysine requirement of fingerling stinging catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch) for optimizing growth, feed conversion, protein and lysine deposition [J]. *Aqu Res*, 2011: 1–11.
- [22] Berge G E, Harald S, Einar L. Nutrition of Atlantic salmon (*Salmo salar*); the requirement and metabolic effect of lysine [J]. *Comp Biochem Physiol Part A*, 1998, 120: 477–485.
- [23] Kaczanowski T C, Beamish F W H. Dietary essential amino acids and heat increment in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Fish Physiol Biochem*, 1996, 15: 105–120.
- [24] Xie F, Ai Q, Mai K, et al. Dietary lysine requirement of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*, Richardson 1846) larvae [J]. *Aqu Res*, 2012, 43(6): 917–928.
- [25] Peres H, Oliva-Teles A. Lysine requirement and efficiency of lysine utilization in turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles [J]. *Aquaculture*, 2008, 275: 283–290.
- [26] 潘鲁青, 刘泓宇, 肖国强. 甲壳动物幼体消化酶研究进展[J]. *中国水产科学*, 2006, 13(3): 492–501.
- [27] 丁贤, 李卓佳, 陈永青, 等. 芽孢杆菌对凡纳对虾生长和消化酶活性的影响[J]. *中国水产科学*, 2004, 11(6): 581–585.
- [28] Zhang C, Ai Q, Mai K, et al. Dietary lysine requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R [J]. *Aquaculture*, 2008, 283: 123–127.
- [29] Zhou F, Shao J, Xu R, et al. Quantitative L-lysine requirement of juvenile black sea bream (*Sparus macrocephalus*) [J]. *Aqu Nutr*, 2010, 16: 194–204.
- [30] 周贤君, 解绶启, 谢从新, 等. 异育银鲫幼鱼对饲料中赖氨酸的利用及需要量研究[J]. *水生生物学报*, 2006, 30(3): 247–255.
- [31] Cao J M, Chen Y, Zhu X, et al. A study on dietary L-lysine requirement of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. *Aqu Nutr*, 2012, 18: 35–45.
- [32] Zhou Q C, Zhao C R, Jiang J, et al. Dietary lysine requirement of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) [J].

Aqu Nutr, 2008, 14: 381–386.

requirement for silver perch (*Bidyanus bidyanus*) juveniles

[33] Yang S D, Liu F G, Liou C W. Assessment of dietary lysine

[J]. Aquaculture, 2011, 312: 102–108.

Effect of dietary lysine levels on grow, body composition and digestive enzyme activity of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*)

ZHANG Weiwei¹, XU Weina¹, WANG Ying^{1,2}, LIU Wenbin^{1,2}, LU Kangle¹, LI Xiangfei¹, YANG Weiwei^{1,2}

1. Key Laboratory of Aquatic Animal Nutrition and Feed Science of Jiangsu Province, College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2. Wuxi Fishery College, Nanjing Agriculture University, Wuxi 214081, China

Abstract: To determine the optimal dietary lysine requirement of red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*, we evaluated the effects of dietary lysine levels on growth performance, feed utilization, body composition, muscle amino acid composition, and digestive enzyme activity of this species. Seven isonitrogenous (28.26% crude protein) and isocaloric (17.15 kJ·g⁻¹ gross energy) diets were formulated with protein sources from the mixture of casein, gelatin, wheat gluten, and crystalline amino acid (AA) mixture. The measured lysine levels of the experimental diets were 0.76%, 1.00%, 1.22%, 1.47%, 1.69%, 1.89% and 2.18%. Each diet was fed to four groups of 12 crayfish with an initial body weight of (7.60±0.01) g in floating net cages (60 cm×60 cm×60 cm). The crayfish were fed three times daily for 60 d. The results indicated that weight gain rate (WGR), specific growth rate (SGR), and feed efficiency ratios (FER) all increased significantly with increasing dietary lysine levels ($P<0.05$), and their maximum values were attained at 1.69%, 1.69%, and 1.22%, respectively. However, they all decreased with further increasing dietary lysine levels. Survival rate ranged from 89.58% to 97.92%, and showed no significant difference among all the dietary treatments ($P>0.05$). Whole-body moisture content of crayfish fed 1.22% dietary lysine was significantly lower than that of crayfish fed 0.76% dietary lysine ($P<0.05$), but showed little difference from that of the other treatments ($P>0.05$). The highest whole-body protein and lipid content was observed in crayfish fed 1.89% and 1.69 dietary lysine, respectively. They were both significantly higher than that of crayfish fed 0.76% lysine ($P<0.05$), but showed little difference with that of the other treatments ($P>0.05$). No significant difference was found in whole-body ash content, muscle composition, muscle AA contents, or digestive enzyme activity among all the treatments ($P>0.05$). The second-order regression analysis of WGR against dietary lysine levels indicated that the optimal dietary lysine requirement of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) was 1.66% of diet (5.87% of dietary protein).

Key words: *Procambarus clarkii*; lysine requirement; growth performance; body composition; digestive enzyme activity

Corresponding author: LIU Wenbin. E-mail: wbliu@njau.edu.cn